

Arbeit aus dem Institut für Angewandte Genetik
der Freien Universität Berlin

CHIASMABILDUNG UND CHIASMALOKALISATION IM
ZUSAMMENHANG MIT HETEROCHROMATISCHEN BANDEN
IN NORMALEN UND MUTIERTEN CHROMOSOMEN VON
VICIA FABA

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
VORGELEGT DEM FACHBEREICH BIOLOGIE
DER
FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN

von
Dipl.-Biol. Bernd Friebe
aus Berlin

1977

Arbeit aus dem Institut für Angewandte Genetik
der Freien Universität Berlin

CHIASMABILDUNG UND CHIASMALOKALISATION IM
ZUSAMMENHANG MIT HETEROCHROMATISCHEN BANDEN
IN NORMALEN UND MUTIERTEN CHROMOSOMEN VON
VICIA FABA



INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
VORGELEGT DEM FACHBEREICH BIOLOGIE
DER
FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN

von
Dipl.-Biol. Bernd Friebe
aus Berlin

1977



Eingereicht am: 14. 9. 1977

Referent:

1. Prof. Dr. Gertrud L I N N E R T
2. Prof. Dr. Kurt-Dietrich K R O L O W

Tag der mündlichen Prüfung: 16. 12. 1977

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	2
3. Ergebnisse	3
3. 1. Das Giemsa-Bandenmuster der mitotischen Metaphase-Chromosomen	3
3. 2. Unterschiede in der Chiasmafrequenz pro PMC zwischen den Linien und zwischen einzelnen Pflanzen innerhalb der Linien	7
3. 3. Korrelation zwischen der relativen mitotischen Chromosomenlänge und der mittleren Chiasmafrequenz pro Bivalent	9
3. 4. Verteilung der Chiasmen zwischen den Bivalenten	9
3. 5. Verteilung der Chiasmen innerhalb von Bivalenten	12
3. 6. Chiasmabildung	14
3. 7. Einfluß der Verteilung von Eu- und Heterochromatin auf die Lokalisation der Chiasmen	20
4. Diskussion	22
4. 1. Einflüsse der Chromosomenstruktur und der Umwelt auf die Chiasmafrequenz pro PMC	22
4. 2. Chiasmainterferenz zwischen Bivalenten	22
4. 3. Chiasmainterferenz innerhalb der Bivalente	24
4. 4. Chiasmabildung und Verteilung	26
4. 5. Einfluß der Heterochromatinverteilung auf die Chiasmaverteilung	28
5. Zusammenfassung	29
6. Literaturverzeichnis	31

1. Einleitung:

Ausreichende Häufigkeit und geregelte Verteilung der Chiasmen in einem Kern sind wesentliche Voraussetzungen für die Fertilität und genetische Konstanz einer Art. Darüber hinaus bedingen intra- sowie interchromosomale Rekombinationsvorgänge aber auch die genetische Flexibilität einer Form. Im Verlauf der Evolution wurden hoch adaptierte Kontrollmechanismen geschaffen, die für eine optimale Anzahl sowie die Verteilung der Chiasmen in einer Art sorgen. Diese Kontrollsysteme werden vorwiegend durch Minor-Gene, teils aber auch durch Major-Gene determiniert (Prakken, 1943; Rees, 1955 und 1957; Rees und Thompson, 1956 und 1958; Jones und Rees, 1964; Jones, 1967 und 1974; Parker, 1975).

Für zahlreiche äußere und innere Faktoren konnte ein Einfluß auf die Chiasmabildung nachgewiesen werden (White, 1934; Straub, 1937; Pastor und Callan, 1952; Linnert, 1953; Elliott, 1958; Fogwill, 1958; Henderson, 1962 und 1963a; Cameron und Rees, 1967; Jones und Rees, 1967; Zarchi et al., 1972; Rees und Dale, 1974; Davies und Jones, 1974). Auch gibt es Anzeichen dafür, daß die Verteilung von Eu- und Heterochromatin die Chiasmabildung und Verteilung zu beeinflussen vermag (White, 1954 und 1958; Linnert, 1958; Fox et al., 1973; Klášterská et al., 1974; Hultén, 1974; Miklos und Nankivell, 1976; Schlegel und Liebelt, 1976; Merker, 1976).

Mit Hilfe der Giemsa- und Fluoreszenz-Banden-Techniken ist eine differentielle Färbung von Eu- und Heterochromatin sowohl in mitotischen wie auch in meiotischen Chromosomen möglich. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den Einfluß der Verteilung von Eu- und Heterochromatin in Chromosomen unterschiedlicher Länge und Gestalt bezüglich der Chiasmabildung und Verteilung zu bestimmen, um damit zum besseren Verständnis der Rekombinationsvorgänge beizutragen.

Als Versuchsobjekt wurde die Kulturpflanze *Vicia faba* gewählt, da die Chromosomen dieser Art sowohl centromerisches als auch inter-

kalares Heterochromatin aufweisen, Terminalisation der Chiasmen, wenn überhaupt, nur zu einem geringem Maße stattfindet und weil die Chiasmafrequenz verglichen mit anderen Objekten relativ hoch ist.

2. Material und Methoden:

Für die vorliegende Untersuchung standen ein Standardkaryotyp, vier Translokationslinien (T1-3d, T2-3f, T3-5b, T3-6g) und eine Inversionslinie (I) zur Verfügung. Der Standard und die Translokationslinien gehen auf eine isogene Population der Svalöfer Varietät *Vicia faba* Primus (f. minor) zurück, aus der von Sjödin (1971a und b) nach Röntgenbestrahlung und ÄMS-Behandlung zahlreiche Mutantenlinien selektiert werden konnten. Die Inversionslinie stammt aus dem Material von Rieger und Michaelis.

Die Bestimmung der Heterochromatinverteilung in den mitotischen Metaphase-Chromosomen erfolgte mit Hilfe der in einer früheren Arbeit beschriebenen Giemsa-Banden-Technik (Friebe, 1976). Für meiotische Chromosomen, bei denen sich die Darstellung von distinkten Banden als besonders schwierig erwies, wurde die Methode wie folgt modifiziert: zwischen Punkt 12. und 13. wurde 30 min in 6 M Harnstoff bei 60°C inkubiert.

Die Pflanzen wurden im Gewächshaus kultiviert. Die Fixierung der Infloreszenzen erfolgte in einem Gemisch aus Alkohol/Eisessig (3:1). Zur Färbung wurden die Infloreszenzen drei bis fünf Tage in eine Eisenkarmin-Lösung gelegt und anschließend für weitere zwei bis vier Tage in verdünnte Karmin-Essigsäure-Lösung übertragen. Danach wurden die Antheren in verdünnter Karmin-Essigsäure-Lösung gequetscht sowie die Chiasmafrequenz und die Verteilung der Chiasmen in den Pollenmutterzellen (PMC) bestimmt. Zur Auswertung gelangten von jeder Linie 10 Pflanzen, wobei pro Pflanze 30 Diakinesen erfaßt wurden. Mit Hilfe der Karmin-Färbung konnten die Bivalente nur auf Grund ihrer Chromosomenlängen und der Schenkellängenverhältnisse unterschieden werden,

so daß jeweils Chromosomen gleicher Länge und Gestalt zu Gruppen zusammengefaßt werden mußten.

3. Ergebnisse:

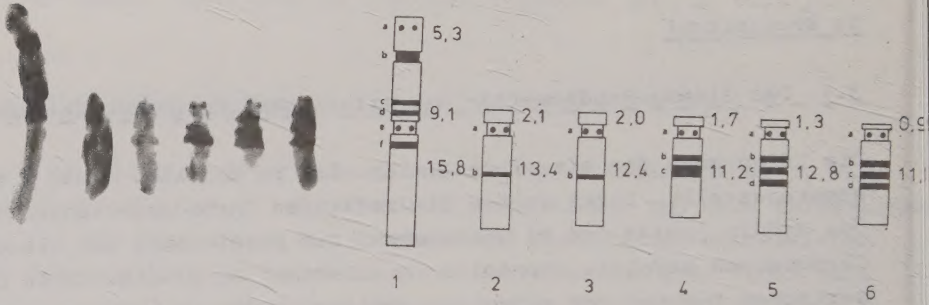
3.1. Das Giemsa-Bandenmuster der mitotischen Metaphase-Chromosomen

Die Idiogramme der einzelnen Linien sind in den Abb. 1 und 2 zusammengestellt. Dabei wurden die relativen Chromosomenlängenangaben von Sjödin (1971a und b) übernommen. Die Bezeichnung der einzelnen Chromosomen erfolgte ebenfalls in Anlehnung an Sjödin. Neben centromerischen konnten vor allem interkalare Banden beobachtet werden, deren Zahl und Lage für jedes Chromosom charakteristisch ist, und die eine Identifizierung der Chromosomen ermöglichen. Die Bezeichnung der reproduzierbaren Marker-Banden erfolgte entsprechend ihrer Lage auf den unterschiedlichen Chromosomen mit Zahlen und innerhalb der einzelnen Chromosomen mit Buchstaben. Mitunter konnten neben den in den Abbildungen dargestellten Giemsa-Banden, vorwiegend in den proximalen Chromosomensegmenten weitere, sehr schmale intensiv gefärbte Bereiche beobachtet werden.

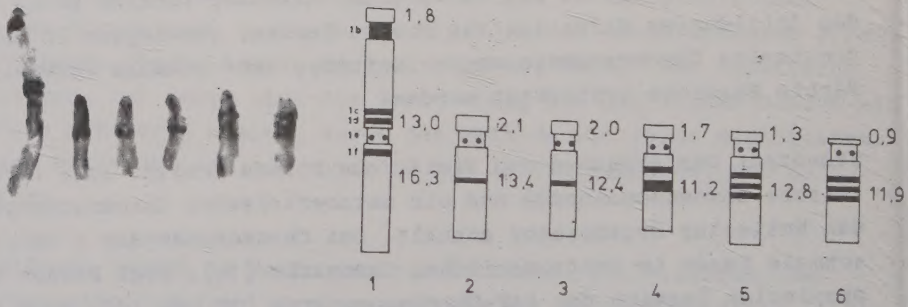
Standard: Der Standard von *Vicia faba* Primus besitzt fünf akrocentrische Chromosomenpaare und ein metacentrisches Chromosomenpaar, das den Nukleolus Organisator enthält. Das Chromosomenpaar 1 weist eine schmale Bande im centromerischen Chromatin (1e), zwei Banden im proximalen Bereich des SAT-Chromosomenarms (1c und 1d), eine breite Bande im Bereich des Nukleolus Organisators (1b) und eine schmale subterminale Bande im Satelliten (1a) auf. Der andere Chromosomenarm enthält nur im proximalen Abschnitt eine schmale Bande (1f). Die Chromosomenpaare 2 und 3 weisen neben den centromerischen Banden (2a und 3a) jeweils eine schmale Bande in der Mitte des langen Chromosomenarms (2b und 3b) auf. Im Chromosomenpaar 4 konnte neben der centromerischen Bande (4a) eine schmale (4b) und eine breitere Bande (4c) in der Mitte des langen Chromosomenarms beobachtet werden. Die Chromosomenpaare 5 und 6 weisen jeweils drei Banden im proximalen bis mittleren Abschnitt des langen Chromosomenarms (5b, 5c, 5d und 6b, 6c, 6d) sowie centromerische Banden (5a und 5b) auf. In Prometaphase-Chromosomen konnte mitunter beobachtet werden, daß bei einem der beiden Chromosomenpaare die eine der drei Banden aus zwei eng

Abb. 1: Idiogramme mit Giemsa-Banden: a) Standard, b) I und c) T1-3d

a)



b)



c)

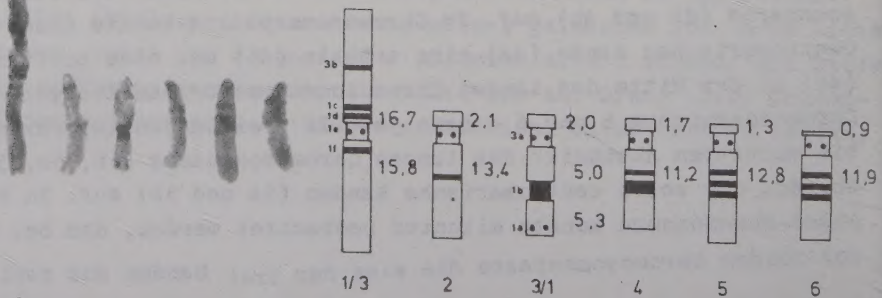
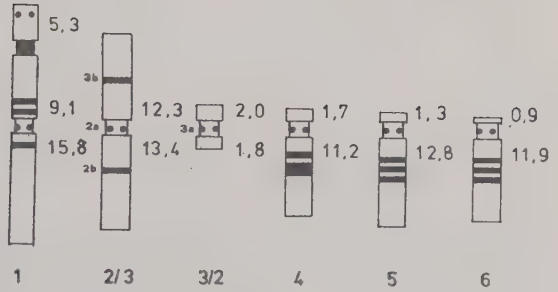
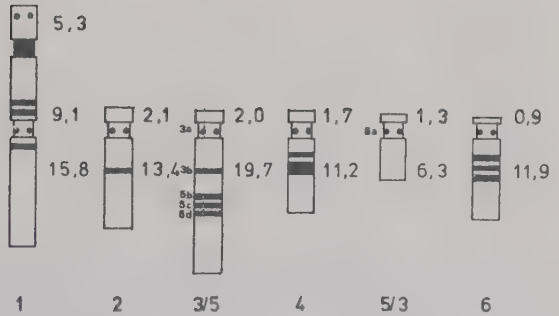
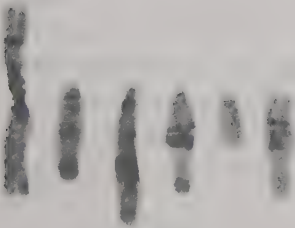


Abb. 2: Idiogramme mit Giemsa-Banden: a) T2-3f, b) T3-5b und c) T3-6g

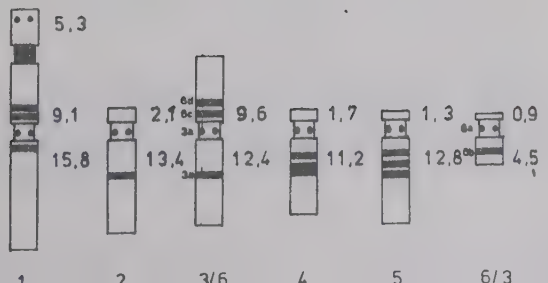
a)



b)



c)



beieinanderliegenden Banden besteht, die mit zunehmender Spiralisation meist fusionieren.

I: In dieser Linie ist nur das Chromosomenpaar 1 verändert. Der Satellit ist infolge des Auftretens einer paracentrischen Inversion kürzer als im entsprechenden Standardchromosom. Im Chromosomenpaar 1 der I-Linie konnten bis auf die schmale subterminale Bande 1a alle weiteren Banden (1b, 1c, 1d, 1e und 1f) des entsprechenden Standardchromosoms beobachtet werden. Die Bandenmuster der Chromosomenpaare 2, 3, 4, 5 und 6 sind mit denen des Standards identisch.

T1-3d: Die Linie T1-3d unterscheidet sich vom Standard durch eine reziproke Translokation zwischen dem SAT-Chromosomenarm des Chromosoms 1 und dem langen Arm des Chromosoms 3. Das translozierte Chromosomenpaar 1/3 enthält neben der centromerischen Bande 1e die zwei proximalen Banden des ursprünglichen SAT-Chromosomenarms 1c und 1d und im mittleren Abschnitt dieses Chromosomenarms die vom Chromosom 3 des Standards stammende schmale Bande 3b. Der andere Arm des Chromosomenpaars 1/3 ist unverändert und weist nur im proximalen Bereich die schmale Bande 1f auf. Das Chromosomenpaar 3/1 besitzt auf Grund der reziproken Translokation den Nukleolus Organisator mit dessen Bande 1b sowie den Satelliten mit der Bande 1a. Weiterhin konnte auch bei diesem Chromosomenpaar im centromerischen Chromatin eine Bande (3a) beobachtet werden. Die Bandenmuster der Chromosomenpaare 2, 4, 5 und 6 entsprechen denen des Standards.

T2-3f: Eine reziproke Translokation zwischen den Chromosomen 2 und 3 führte in dieser Linie zur Ausbildung des metacentrischen Chromosoms 2/3 und des sehr kleinen Chromosoms 3/2. In beiden Translokationschromosomen konnten die centromerischen Banden 2a und 3a beobachtet werden. Das Chromosomenpaar 2/3 enthält weiterhin im mittleren Segment der beiden Chromosomenarme eine Bande, die den Banden 2b und 3b des Standards entsprechen. Die Bandenmuster der Chromosomenpaare 1, 4, 5 und 6 unterscheiden sich nicht von denen des Standards.

T3-5b: In dieser Linie führte eine reziproke Translokation zwischen den langen Armen der Chromosomen 3 und 5 zum Entstehen eines langen (3/5) und eines kurzen (5/3) akrocentrischen Chromosoms. Das Chromo-

somenpaar 3/5 weist neben der centromerischen Bande 3a in der ersten Hälfte des langen Chromosomenarms eine weitere Bande auf, die der Bande 3b entspricht. Darüber hinaus konnten in dem sich anschließenden Segment die drei Banden 5b, 5c und 5d des entsprechenden Standardchromosoms beobachtet werden. Im Chromosomenpaar 5/3 konnte neben der centromerischen Bande 5a keine weitere Bande beobachtet werden. Die Bandenmuster der Chromosomenpaare 1, 2, 4 und 6 entsprechen denen des Standards.

T3-6g: Als Folge einer reziproken Translokation zwischen dem kurzen Arm des Chromosoms 3 und dem langen Arm des Chromosoms 6 enthält diese Linie neben den Chromosomenpaaren 1, 2, 4 und 5, deren Bandenmuster sich von denen der entsprechenden Standardchromosomen nicht unterscheiden, ein submetacentrisches Chromosomenpaar 3/6 sowie ein kurzes akrocentrisches Chromosomenpaar 6/3. Der kurze Arm des submetacentrischen Chromosomenpaars 3/6 weist im proximalen Bereich zwei Banden auf, die den Banden 6c und 6d des Standards entsprechen. Der lange Arm des Chromosomenpaars 3/6 ist mit dem des Standardchromosoms 3 identisch und weist nur im mittleren Segment die Bande 3b auf. In der Mitte des langen Arms des Chromosomenpaars 6/3 konnte eine Bande beobachtet werden, die der proximalen Bande 6b des Standards entspricht. Weiterhin konnten im centromerischen Chromatin der beiden translozierten Chromosomen die Banden 3a bzw. 6a des Standards beobachtet werden.

3. 2. Unterschiede in der Chiasmafrequenz pro PMC zwischen den Linien und zwischen einzelnen Pflanzen innerhalb der Linien

In der Tab. 1 sind die mittleren Chiasmafrequenzen, die entsprechenden Varianzen sowie das Verteilungsmuster der PMC mit bestimmten Chiasmenzahlen zusammengestellt. Die Varianzanalytische Bearbeitung zeigt, daß die Varianz zwischen den Linien signifikant größer ist ($P < 0,0005$) als die innerhalb der Linien, d.h. daß zwischen den einzelnen Linien signifikante Unterschiede hinsichtlich der mittleren Chiasmafrequenz pro PMC vorhanden sind. Auf Grund der weiteren t-Prüfung können die Unterschiede zwischen folgenden Gruppenmitteln als signifikant angesehen werden: Standard/I, Standard/T1-3d, Standard/T3-6g, I/T2-3f ($P < 0,01$) und T1-3d/T2-3f, T2-3f/T3-6g ($P < 0,001$).

Tab. 1: Vergleich der mittleren Chiasmafrequenzen pro PMC ($\bar{x}$) und der Varianzen (s^2) im Standard und in fünf Mutanten-Linien von *Vicia faba*

Linie	Chiasmafrequenz pro Zelle													Anzahl PMC	$\bar{x}$	s^2	
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25				26
Standard	--	--	1	4	9	30	45	51	59	60	23	12	5	1	300	20,58	3,66
I	2	3	8	28	43	54	58	50	27	19	8	--	--	--	"	18,70	3,96
T1-3d	1	2	8	22	55	76	55	48	22	6	4	1	--	--	"	18,44	2,98
T2-3f	--	--	--	1	7	20	34	63	85	55	16	16	3	--	"	20,74	2,70
T3-5b	--	--	2	7	26	34	73	72	50	28	6	2	--	--	"	19,58	2,68
T3-6g	--	5	9	33	39	71	63	48	18	11	3	--	--	--	"	18,40	3,18
Variationsursache	S.q.A.			F.G.			s^2			F			P				
total	7422,51			1799													
zwischen den Linien	1694,48			5			338,90										
innerh. der Linien	5728,03			1795			3,19			106,14			<0,0005				

Mit Hilfe der Varianzanalyse konnte ferner gezeigt werden, daß mit Ausnahme der Linie T3-5b ($0,1 > P > 0,05$) auch innerhalb der Linien signifikante Unterschiede ($P < 0,01$) in der mittleren Chiasmafrequenz pro PMC zwischen einzelnen Pflanzen bestehen.

3. 3. Korrelation zwischen der relativen mitotischen Chromosomenlänge und der mittleren Chiasmafrequenz pro Bivalent

Auf Grund der in den einzelnen Linien vorhandenen Unterschiede in der Chromosomenlänge konnte eine Analyse der Beziehung zwischen relativer mitotischer Chromosomenlänge und mittlerer Chiasmafrequenz pro Bivalent durchgeführt werden. Die Daten sind in der Tab. 2, deren graphische Darstellung in Abb. 3 wiedergegeben. In den Fällen, wo eine Unterscheidung zwischen einzelnen Bivalenten nicht möglich war, wurden die Mittel der betreffenden Chromosomenlängen und der Chiasmafrequenzen angegeben. Unter der Annahme einer einfachen linearen Abhängigkeit erhält man einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,98$, der mit $P < 0,0001$ hoch signifikant ist. Der entsprechende Regressionskoeffizient und das absolute Glied haben die Werte $m = 0,18$ bzw. $b = 0,21$. Die Beobachtungen zeigen deutlich, daß auch die sehr kleinen translozierten Chromosomenpaare 3/2, 5/3 und 6/3 fast immer ein Chiasma ausbilden. Darüber hinaus steigt die Chiasmafrequenz linear mit zunehmender Chromosomenlänge, so daß auch die translozierten Chromosomenpaare 1/3, 2/3, 3/5, 3/6 und 3/1 sowie das Inversionschromosomenpaar 1 der I-Linie eine ihrer Chromosomenlänge entsprechende Chiasmafrequenz aufweisen.

3. 4. Verteilung der Chiasmen zwischen den Bivalenten

Es wurde geprüft, ob die Chiasmafrequenz eines Bivalents, die Chiasmafrequenz der anderen Bivalente einer PMC zu beeinflussen vermag, d.h. ob zwischen den Bivalenten Interferenzmechanismen wirksam sind. In den Fällen, in denen die betreffenden Bivalente auf Grund ihrer Länge unterschieden werden konnten, wurden die Korrelationskoeffizienten wie folgt berechnet:

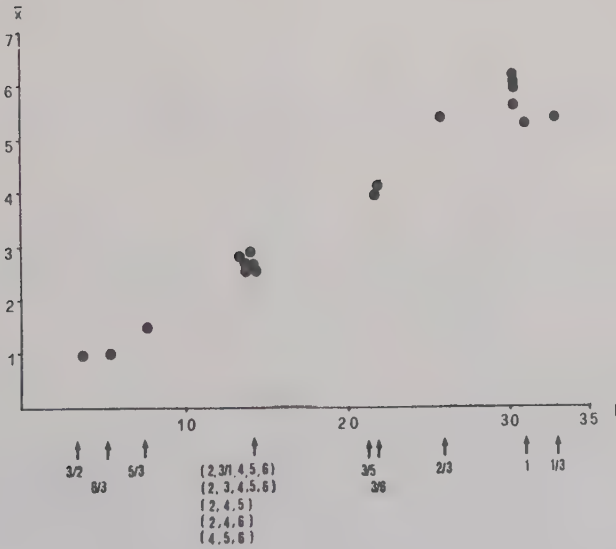
$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x}_i) (y_i - \bar{y}_i)}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x}_i)^2 \sum (y_i - \bar{y}_i)^2}}$$

Innerhalb einer Gruppe von nicht unterscheidbaren Bivalenten wurde nach der Methode von Mather und Lamm (1935, siehe auch Mather 1951) verfahren. Hierbei vergleicht man die Varianz innerhalb von PMC mit

Tab. 2: Relative mitotische Chromosomenlänge (l), mittlere Chiasmafrequenzen pro Bivalent ($\bar{x}$), Varianzen (s^2) und Interferenz-Indizes (i) im Standard und in fünf Mutanten-Linien von *Vicia faba*

Chromosom	Linie	l	$\bar{x}$	s^2	i
1/3	T1-3d	32,5	5,37	1,32	0,75
1	I	31,1	5,32	1,02	0,81
1	Standard	30,2	6,13	1,07	0,83
1	T2-3f	30,2	5,99	0,78	0,87
1	T3-5b	30,2	6,01	0,88	0,85
1	T3-6g	30,2	5,58	0,75	0,87
2/3	T2-3f	25,7	5,40	1,08	0,80
3/6	T3-6g	22,0	4,10	1,04	0,75
3/5	T3-5b	21,7	3,87	0,95	0,75
(2,4,5)	T3-6g	14,2	2,57	0,48	0,81
(2,3,4,5,6)	Standard	13,9	2,89	0,58	0,80
(2,3,4,5,6)	I	13,9	2,68	0,49	0,82
(2,4,6)	T3-5b	13,7	2,74	0,46	0,83
(2,3/1,4,5,6)	T1-3d	13,5	2,61	0,50	0,81
(4,5,6)	T2-3f	13,3	2,79	0,44	0,84
5/3	T3-5b	7,6	1,48	0,27	0,82
6/3	T3-6g	5,4	1,04	0,04	0,96
3/2	T2-3f	3,8	0,99	0,03	0,97

Abb. 3: Beziehung zwischen relativer mitotischer Chromosomenlänge (l) und mittlerer Chiasmafrequenz pro Bivalent ($\bar{x}$) im Standard und in fünf Mutanten-Linien von *Vicia faba*



der zwischen PMC. Ist die Varianz innerhalb von PMC signifikant größer als die zwischen PMC, so besagt dies, daß zwischen den Bivalenten einer PMC große Unterschiede in der Chiasmafrequenz vorhanden sind, die sich jedoch insgesamt kompensieren, so daß zwischen den PMC nur geringe Unterschiede in der Chiasmafrequenz auftreten. Eine solche Kompensation ist aber nur möglich, wenn innerhalb einer PMC Bivalente mit sehr hohen und sehr niedrigen Chiasmafrequenzen zusammen auftreten, was einer negativen Korrelation der Chiasmafrequenzen zwischen den beteiligten Bivalenten entspricht. Ist dagegen die Varianz zwischen PMC größer als die innerhalb von PMC, so erhält man positive Korrelationen. Negative Korrelationskoeffizienten deuten auf das Vorhandensein von Chiasmainterferenz zwischen den Bivalenten hin, während positive Korrelationskoeffizienten anzeigen, daß die Chiasma-bildung in einem Bivalent unabhängig ist von der der anderen Bivalente

Insgesamt wurden 210 Korrelationskoeffizienten berechnet, von denen jedoch nur 10 signifikant negativ und 7 signifikant positiv waren (siehe Tab. 3). Sowohl zwischen den unterscheidbaren Bivalenten als auch innerhalb der Gruppen von gleichlangen Bivalenten zeigten einige Pflanzen negative, andere dagegen positive Korrelationskoeffizienten auf. Diese Beobachtungen zeigen, daß in dem untersuchten Material Chiasmainterferenz zwischen Bivalenten innerhalb von PMC kein wesentliches Kontrollelement der Chiasmabildung ist.

3. 5. Verteilung der Chiasmen innerhalb von Bivalenten

Nach Haldane (1931) kann man das Vorhandensein von Chiasmainterferenz innerhalb von Bivalenten nachweisen, indem man die beobachteten Chiasmaverteilungen einzelner Bivalente mit einer Poisson-Verteilung vergleicht. Die Erwartungswerte berechnen sich hierbei nach $N \bar{x}^n / n! e^{-\bar{x}}$, wobei N die Anzahl der Beobachtungen, $\bar{x}$ die mittlere Chiasmafrequenz in dem untersuchten Bivalent, n die Zahl der Chiasmen in der zu berechnenden Klasse und e die Basis des natürlichen Logarithmus darstellt.

Diese Berechnungen wurden für sämtliche Bivalente bzw. Gruppen von nicht unterscheidbaren Bivalenten durchgeführt. Dabei zeigte es sich,

Tab. 3: Korrelationskoeffizienten (r) für die bei einzelnen Pflanzen beobachteten Beziehungen zwischen den Chiasmafrequenzen von bestimmten Bivalenten

beteiligte Bivalente	Linie	r
1 und $\Sigma(2,3,4,5,6)$	Standard	+0,37 ^x
1 und $\Sigma(2,3,4,5,6)$	I	+0,37 ^x
1 und $\Sigma(2,3,4,5,6)$	I	+0,42 ^x
1/3 und $\Sigma(2,3/1,4,5,6)$	T1-3d	-0,41 ^x
1/3 und $\Sigma(2,3/1,4,5,6)$	T1-3d	-0,41 ^x
1 und $\Sigma(2,4,6)$	T3-5b	-0,53 ^{xxx}
1 und $\Sigma(2,4,5)$	T3-6g	+0,57 ^{xxx}
1 und $\Sigma(2,4,5)$	T3-6g	+0,41 ^x
1 und 5/3	T3-5b	+0,41 ^x
1 und 5/3	T3-5b	-0,47 ^{xx}
2/3 und $\Sigma(4,5,6)$	T2-3f	-0,36 ^x
2/3 und $\Sigma(4,5,6)$	T2-3f	-0,37 ^x
innerhalb (2,3,4,5,6)	Standard	-0,10 ^x
innerhalb (4,5,6)	T2-3f	+0,23 ^x
innerhalb (4,5,6)	T2-3f	-0,21 ^x
innerhalb (2,4,6)	T3-5b	-0,20 ^x
innerhalb (2,4,5)	T3-6g	-0,25 ^{xx}

x P < 0,05

xx P < 0,01

xxx P < 0,001

daß die beobachteten Verteilungen in allen Fällen signifikant von einer Poisson-Verteilung abwichen ($P < 0,0005$), da die Klassen mit hoher oder niedriger Chiasmafrequenz unterrepräsentiert, die mit mittleren Chiasmafrequenzen dagegen überrepräsentiert waren.

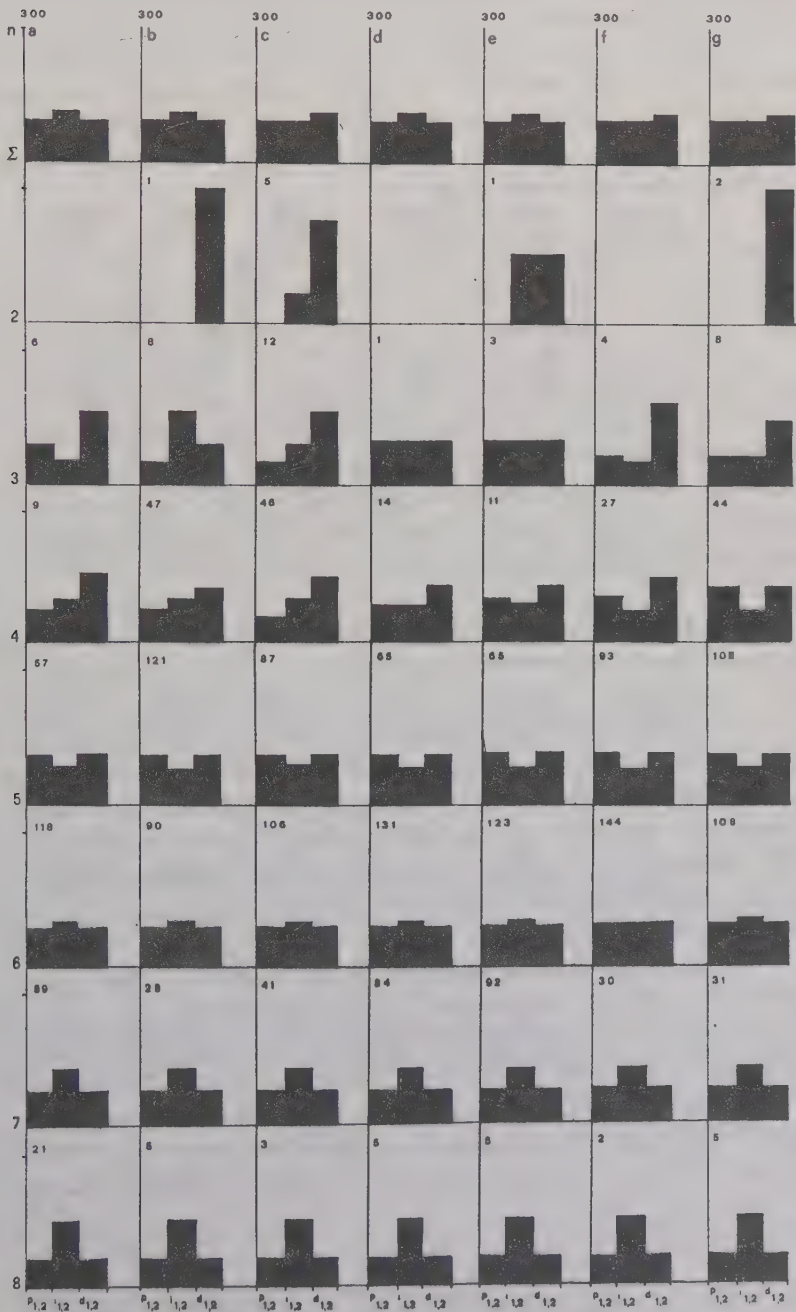
Entsprechende Ergebnisse erhält man, wenn man nur die beobachteten Varianzen mit den bei einer Poisson-Verteilung zu erwartenden Varianzen vergleicht. Der Quotient aus beobachteter und erwarteter Varianz, die bei einer Poisson-Verteilung ihrem Mittelwert entspricht, wird dabei als Koinzidenz-Index c , und $1-c$ als Interferenz-Index bezeichnet. Die Tab. 2 zeigt, daß die Varianzen in allen Fällen weitaus kleiner waren als die entsprechenden Mittelwerte, woraus sich Koinzidenz-Indizes die kleiner als 1 sind und somit positive Interferenz-Indizes ergaben.

Ferner konnte in allen Linien beobachtet werden, daß auch die Verteilung der Chiasmafrequenzen pro PMC signifikant von einer Poisson-Verteilung abwichen ($P < 0,0005$).

3. 6. Chiasmabildung

Bei der Lokalisation der Chiasmen wurde zwischen proximalen, interstitiellen und distalen Chiasmen unterschieden. Die Abb. 4 zeigt die Verteilungsmuster der Chiasmen in den metacentrischen Chromosomenpaaren 1 (Standard), 1 (I), 1/3 (T1-3d), 1 (T2-3f), 1 (T3-5b), 1 (T3-6g) und 2/3 (T2-3f) bei unterschiedlichen Chiasmenzahlen (n) pro Bivalent. In Anlehnung an Hutchinson (1973) wurden die Chiasmaverteilungen in den Bivalenten mit unterschiedlichen Chiasmenzahlen getrennt erfaßt. Da bei dieser Gruppe von Bivalenten in der Diakinese die einzelnen Arme nicht unterschieden werden konnten, wurde die Summe der proximalen ($p_{1,2}$), interstitiellen ($i_{1,2}$) und distalen ($d_{1,2}$) Chiasmen dargestellt. Die über den einzelnen Diagrammen angegebenen Zahlen geben die Anzahl der beobachteten Bivalente in der dargestellten Klasse an. Betrachtet man die Gesamtzahl der gebildeten Chiasmen (Σ), so sieht man, daß trotz der zum Teil vorhandenen strukturellen Unterschiede in allen Bivalenten proximale, interstitielle und distale Chiasmen mit annähernd gleicher Häufigkeit auftraten. Auch die Verteilung der Chiasmen bei unterschiedlichen Chiasmenzahlen

Abb. 4: Prozentuale Verteilung der Chiasmen in den metacentrischen Chromosomenpaaren a) 1 (Standard), b) 1 (I), c) $1/3$ (T1-3d), d) 1 (T2-3f), e) 1 (T3-5b), f) $1/3$ (T3-6g) und g) $2/3$ (T2-3f) bei unterschiedlichen Chiasmafrequenzen (n) pro Bivalent

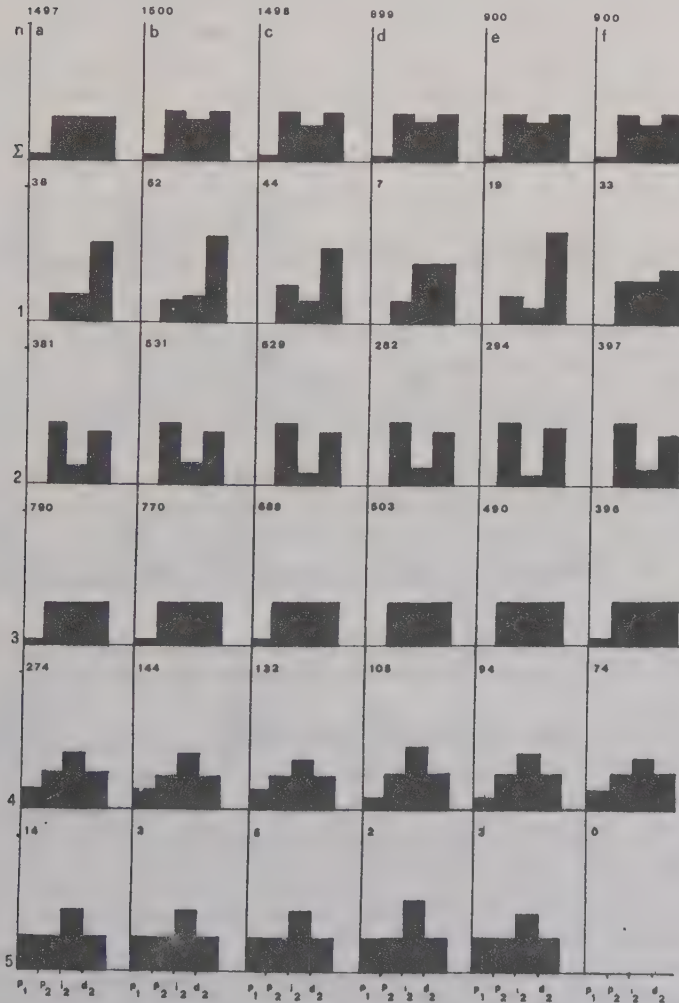


pro Bivalent läßt eine allgemeine Tendenz erkennen. So sind die Chiasmen in den Bivalenten mit zwei Chiasmen pro Bivalent vorwiegend distal lokalisiert. Auch in den Bivalenten mit drei und vier Chiasmen ist der prozentuale Anteil der distalen Chiasmen meist ebenfalls noch größer als der der proximalen oder interstitiellen Chiasmen. In der Klasse mit fünf Chiasmen pro Bivalent treten distale und proximale Chiasmen mit annähernd gleicher Häufigkeit auf. In den Klassen mit sechs bis acht Chiasmen pro Bivalent steigt nunmehr der Anteil der interstitiellen Chiasmen stark an.

Diese Beobachtungen zeigen, daß bei niedrigen Chiasmenzahlen pro Bivalent die Chiasmen vorwiegend distal oder proximal lokalisiert sind, während mit zunehmender Anzahl Chiasmen pro Bivalent der Anteil der interstitiellen Chiasmen ansteigt. Dies trifft sowohl für die Gruppe der Chromosomenpaare 1 (Standard, T2-3f, T3-5b, T3-6g) als auch für das invertierte Chromosomenpaar 1 der I-Linie und für das translozierte Chromosomenpaar 2/3 der Linie T2-3f zu, was darauf hinweist, daß die vorhandenen Umlagerungen von eu- und heterochromatischen Chromosomensegmenten nur geringen Einfluß auf die beobachtete Chiasmabildungstendenz ausüben.

Die Abb. 5 zeigt die Chiasmaverteilungen innerhalb der unterschiedlichen akrocentrischen Chromosomenpaare 2, 3, 4, 5, 6 (Standard); 2, 3, 4, 5, 6 (I); 2, 3/1, 4, 5, 6 (T1-3d); 4, 5, 6 (T2-3f); 2, 4, 6 (T3-5b) und 2, 4, 5 (T3-6g). Neben der Anzahl der Chiasmen im langen Arm dieser Chromosomenpaare (p_2 , i_2 , d_2) konnte hierbei auch die Zahl der proximalen Chiasmen im kurzen Arm (p_1) bestimmt werden. Die Gesamtverteilungen der Chiasmen in den unterschiedlichen Gruppen von Bivalenten (Σ) unterscheiden sich vorwiegend im Anteil der interstitiellen Chiasmen. Auch in dieser Gruppe von Bivalenten konnte eine allgemeine Bildungstendenz der Chiasmen beobachtet werden. Bei einem Chiasma pro Bivalent wurde dieses zumeist in den distalen Chromosomensegmenten lokalisiert. Hierbei war jedoch nicht in jedem Fall eine eindeutige Identifizierung der Centromere möglich, so daß möglicherweise in einigen Fällen distale bzw. proximale Chiasmen falsch klassifiziert wurden. In der Klasse der Bivalente mit zwei Chiasmen lagen die Chiasmen vorwiegend in proximalen und distalen Segmenten der langen Chromosomenarme. Bei drei Chiasmen pro Bivalent traten proximale, interstitielle

Abb. 5: Prozentuale Verteilung der Chiasmen in der Gruppe der akrocentrischen Chromosomenpaare a) 2,3,4,5,6 (Standard), b) 2,3,4,5,6 (I), c) 2,3/1,4,5,6 (T1-3d), d) 4,5,6 (T2-3f) e) 2,4,6 (T3-5b) und f) 2,4,5 (T3-6g) bei unterschiedlichen Chiasmafrequenzen (n) pro Bivalent



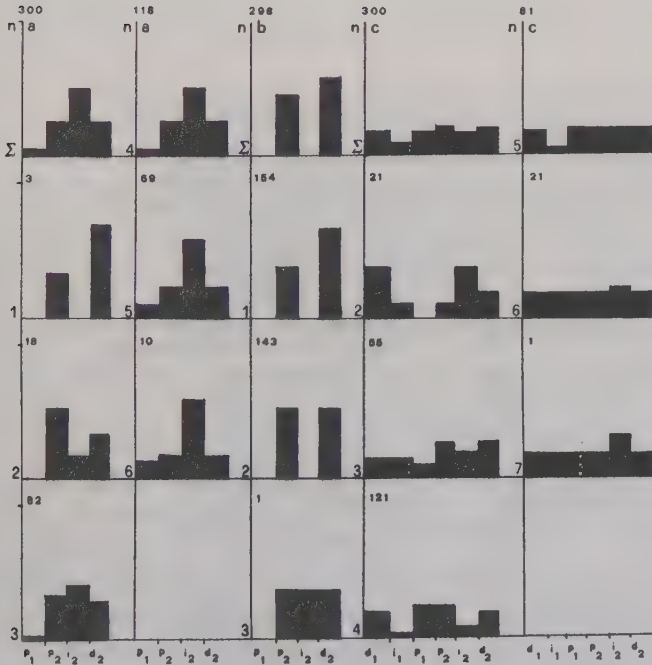
und distale Chiasmen mit der gleichen Häufigkeit auf. In den Klassen mit vier und fünf Chiasmen pro Bivalent stieg dann der Anteil der interstitiellen Chiasmen sowie der der proximalen Chiasmen im kurzen Chromosomenarm weiter an. Auch in der Gruppe der akrocentrischen Chromosomenpaare wurden die Chiasmen bei niedriger Chiasmazahl pro Bivalent zumeist in den distalen und proximalen Segmenten der langen Chromosomenarme lokalisiert, während bei höheren Chiasmafrequenzen pro Bivalent daneben auch interstitielle und proximale Chiasmen im kurzen Chromosomenarm beobachtet werden konnten. Auch in diesem Fall scheinen die unterschiedlichen Chromosomenstrukturen der einzelnen Gruppen nur einen relativ geringen Einfluß auf diese Bildungstendenz auszuüben.

In der Abb. 6 sind die Chiasmaverteilungen der akrocentrischen Chromosomenpaare 3/5 und 5/3 der Linie T3-5b sowie die des submetacentrischen Chromosomenpaars 3/6 der Linie T3-6g dargestellt. Im Chromosomenpaar 3/5 konnten auf Grund des langen interkalaren Segments weitaus mehr interstitielle Chiasmen beobachtet werden als in den übrigen akrocentrischen Chromosomenpaaren. Hinsichtlich der Abfolge der Chiasmabildung waren jedoch kaum Unterschiede zu verzeichnen. Auch hier werden zunächst die distalen und proximalen Chiasmen gebildet und erst mit steigender Chiasmafrequenz pro Bivalent treten interstitielle Chiasmen und proximale Chiasmen im kurzen Arm auf.

Im kurzen akrocentrischen Chromosomenpaar 5/3 wurden fast ausschließlich distale und proximale Chiasmen im längeren Arm beobachtet.

Für das submetacentrische Chromosomenpaar 3/6 konnten die Positionen der Chiasmen für beide Chromosomenarme getrennt bestimmt werden. Entsprechend ihrer Lage wurden die Chiasmen im kurzen Chromosomenarm mit p_1 , i_1 und d_1 , die im langen Arm gelegenen Chiasmen mit p_2 , i_2 und d_2 bezeichnet. Die Gesamtverteilung der Chiasmen (Σ) in diesem Bivalent zeigt, daß im kurzen Chromosomenarm etwas weniger Chiasmen gebildet wurden, als im langen Chromosomenarm. Dies wird besonders am Anteil der interstitiellen Chiasmen deutlich. In Bivalenten mit nur zwei Chiasmen wurden diese vorwiegend im distalen Segment des kurzen Chromosomenarms und im interstitiellen und distalen Segment des langen Chromosomenarms beobachtet. Bei den Bivalenten mit drei Chiasmen

Abb. 6: Prozentuale Verteilung der Chiasmen in den akrocentrischen Chromosomenpaaren a) 3/5 (T3-5b) und b) 5/3 (T3-5b) und im submetacentrischen Chromosomenpaar c) 3/6 (T3-6g) bei unterschiedlichen Chiasmafrequenzen (n) pro Bivalent



wurde ein großer Anteil der Chiasmen im proximalen und distalen Segment des langen Chromosomenarms beobachtet. Beim Vorhandensein von vier Chiasmen pro Bivalent lagen die Chiasmen mit annähernd gleicher Häufigkeit in den proximalen und distalen Segmenten beider Chromosomenarme. Mit weiter steigender Anzahl an Chiasmen pro Bivalent wurden zunächst die interstitiellen Chiasmen im langen Chromosomenarm und anschließend die im kurzen Chromosomenarm gebildet.

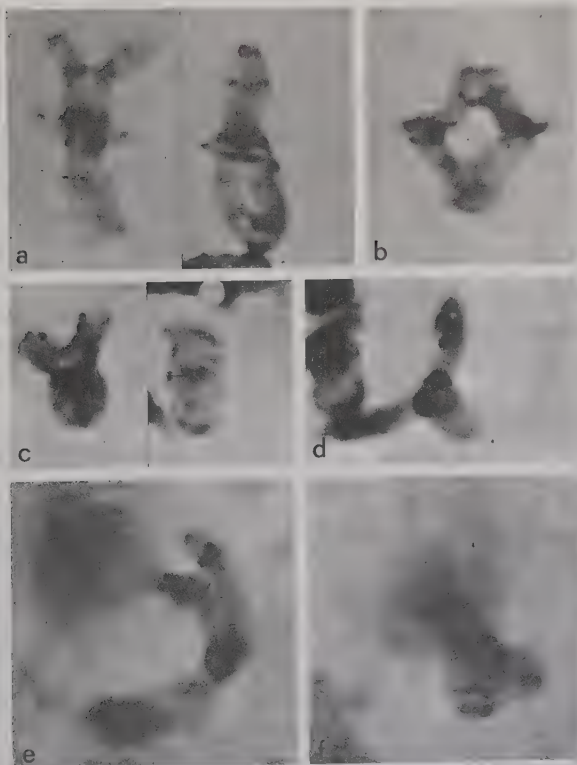
Die kurzen translozierten Chromosomenpaare 3/2 und 6/3 bildeten fast immer nur ein Chiasma in einem Chromosomenarm aus.

3. 7. Einfluß der Verteilung von Eu- und Heterochromatin auf die Lokalisation der Chiasmen

Genauere Aussagen über den Einfluß der Heterochromatinverteilung auf die Lokalisation der Chiasmen können nur an differentiell gefärbten Bivalenten gewonnen werden. Bisher konnten jedoch nur relativ wenige meiotische Chromosomen mit distinkten Giemsa-Banden dargestellt werden, so daß die vorliegenden Ergebnisse noch recht unvollständig sind. Die interkalaren Banden sind meist nur sehr schwach oder überhaupt nicht zu erkennen, während die Bande im Bereich des Nukleolus Organisationsorgans häufiger beobachtet werden konnten. Auch mit Hilfe von Fluoreszenz-Banden-Techniken (Q, QM und H 33258) konnte nur sehr selten ein Bandenmuster in den meiotischen Chromosomen induziert werden. Die schwächere Ausbildung von Banden in den meiotischen Bivalenten wird möglicherweise durch die stärkere Spiralisierung dieser Chromosomen, die eine Doppelwendel bilden, im Vergleich zu Mitosechromosomen verursacht. Auch könnten Änderungen im Gehalt und in der Zusammensetzung der chromosomalen Proteine die Induktion von Banden in den meiotischen Chromosomen erschweren. Darüber hinaus werden die chromosomalen Strukturen von den Banden-Techniken stark angegriffen, so daß auch die Bestimmung der Lage der Chiasmen mitunter recht schwierig ist.

In der Abb. 7 sind einige differentiell gefärbte meiotische Chromosomen dargestellt. Auf Grund der bisher vorliegenden Ergebnisse scheint es, daß die Chiasmen relativ häufig an der Grenze zwischen eu- und heterochromatischen Strukturen, dagegen sehr selten im Bereich des Heterochromatins ausgebildet werden.

Abb. 7: Meiotische Chromosomen mit Giemsa-Banden a) 1 (Standard),
b) 1 (T3-5b), c) akrocentrische Chromosomenpaare (Standard),
d) 3/5 (T3-5b), e) 1 (I) mit Nukleolus (N) und f) 3/1
(T1-3d) mit Nukleolus



4. Diskussion

4. 1. Einflüsse der Chromosomenstruktur und der Umwelt auf die Chiasmafrequenz pro PMC

Die im Standardkaryotyp beobachteten Chiasmafrequenzen sind kleiner als die von Maeda (1930), Sax (1935), Mather und Lamm (1935), Rowlands (1958) und Snarma und Singh (1968), entsprechen jedoch den von Marquardt (1951) und Sjödin (1970) bei *Vicia faba* beobachteten Werten. Diese Unterschiede könnten zum einen durch die unterschiedliche genetische Struktur der untersuchten Populationen, zum anderen durch unterschiedliche Umwelteinflüsse bedingt sein.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß sowohl zwischen den einzelnen Linien, als auch zwischen einzelnen Pflanzen innerhalb einer Linie signifikante Unterschiede hinsichtlich der Chiasmafrequenz pro PMC vorhanden sind. Rowlands (1958) konnte ebenfalls zwischen einzelnen Pflanzen einer Population Unterschiede in der Chiasmafrequenz pro PMC feststellen. Diese Beobachtungen veranlaßten ihn zu der Annahme, daß innerhalb jeder Pflanze Mechanismen wirksam sind, die die Chiasmafrequenz pro PMC kontrollieren, daß sich jedoch einzelne Pflanzen in der Höhe dieses Kontrollniveaus unterscheiden können.

Die vorliegenden Beobachtungen an Pflanzen mit weitgehender genetischer Homogenität zeigen, daß die Höhe dieses Kontrollniveaus im untersuchten Material eher auf variierende Umweltfaktoren, als auf genetische Unterschiede zwischen den Pflanzen zurückzuführen ist.

Die Ursache der zwischen den einzelnen Linien beobachteten Unterschiede in der Chiasmafrequenz ist dagegen wahrscheinlich in den unterschiedlichen Chromosomenstrukturen der einzelnen Linien zu sehen.

4. 2. Chiasmainterferenz zwischen Bivalenten

Bei *Drosophila* konnte gezeigt werden (Morgan et al., 1933; Ramel, 1962) daß die durch heterozygote para- und pericentrische Inversionen

bedingte Reduzierung der crossing-over Frequenz in einem Chromosom nicht nur die Austauschrate in den nicht invertierten Abschnitten des Inversionschromosoms, sondern auch die der übrigen Chromosomen der Zelle zu steigern vermag. Entsprechende Beobachtungen konnten auch an pflanzlichen Objekten gewonnen werden (Rhoades, 1955; Bellini und Bianchi, 1963).

Der Einfluß der Chiasmafrequenz von bestimmten Bivalenten auf die anderer Bivalente innerhalb einer PMC konnte cytologisch erstmals von Darlington (1933) beim Roggen nachgewiesen werden, wo die Chiasmafrequenz eines akzessorischen Chromosomenpaares negativ korreliert war mit der der anderen Bivalente. Negative Korrelationen der Chiasmafrequenz zwischen Bivalenten entsprechen positiver Chiasmainterferenz. Auf Grund weiterer Beobachtungen an verschiedenen Organismen stellte Mather (1936) eine Hypothese auf, nach der die Bivalente einer PMC um eine begrenzte Anzahl an Chiasmen konkurrieren. Nach dieser Hypothese manifestiert sich dieser Konkurrenzmechanismus in negativen Korrelationen der Chiasmafrequenzen zwischen verschiedenen Bivalenten; hohe bzw. niedrige Chiasmafrequenzen in einem Bivalent werden danach durch niedrige bzw. hohe Chiasmafrequenzen in anderen Bivalenten einer Zelle kompensiert, so daß die Chiasmafrequenzen pro PMC nur relativ kleinen Schwankungen unterlegen sind.

Basak und Jain (1963 und 1964) modifizierten diese Hypothese dahingehend, daß sie annahmen, daß Konkurrenz zwischen den Bivalenten innerhalb von PMC nur oberhalb einer bestimmten Mindestanzahl an Chiasmen auftritt, dagegen wird unterhalb dieser Grenze ein autonomes Verhalten der Bivalente angenommen. Das bewirkt, daß jedes Bivalent mindestens ein Chiasma ausbildet und somit eine geregelte Verteilung der Chromosomen gewährleistet wird.

Während in einigen Organismen starke negative Korrelationen der Chiasmafrequenzen zwischen verschiedenen Bivalenten einer Zelle nachgewiesen werden konnten, wurde auch eine Vielzahl an Objekten beschrieben, die keine solche Korrelationen zeigten, bzw. die sowohl negative als auch positive Korrelationen aufwiesen (Mather und Lamm, 1935; Mather, 1936; Harte, 1956; Rowlands, 1958; Elliott, 1958;

Basak und Jain, 1963 und 1964; Hewitt und John, 1965; Shaw, 1965 und 1967; Southern, 1967; Hultén, 1974). Sogar innerhalb einer Infloreszenz konnten für verschiedene Antheren sowohl negative als auch positive Korrelationskoeffizienten berechnet werden (Elliott, 1958).

Sax (1935) konnte keine negative Korrelation der Chiasmafrequenzen zwischen dem SAT-Chromosomenpaar und der Gruppe der akrocentrischen Chromosomenpaare bei *Vicia faba* feststellen. Mather und Lamm (1935) konnten diese Beobachtungen bestätigen, jedoch zeigten diese Autoren ferner, daß die Chiasmafrequenzen innerhalb der Gruppe der akrocentrischen Chromosomenpaare negativ miteinander korreliert waren. Rowlands (1958) konnte in verschiedenen Pflanzen sowohl zwischen dem SAT-Chromosomenpaar und der Gruppe der akrocentrischen Chromosomenpaare als auch innerhalb der Gruppe der akrocentrischen Chromosomenpaare negative und positive Korrelationen der Chiasmafrequenzen beobachten.

Die vorliegenden Beobachtungen stehen in Übereinstimmung mit denen von Rowlands (1958). Auf Grund der in den einzelnen Linien vorhandenen chromosomalen Unterschiede war die Berechnung zahlreicher Korrelationen sowohl zwischen morphologisch unterschiedlichen Bivalenten bzw. Gruppen von Bivalenten als auch innerhalb dieser Gruppen möglich. Die überwiegende Mehrzahl der berechneten Korrelationskoeffizienten war nicht signifikant. Unter den signifikanten Korrelationskoeffizienten wurden negative wie auch positive Korrelationen sowohl zwischen Bivalenten mit unterschiedlicher Länge als auch innerhalb einer Größenklasse bestimmt. Auf Grund dieser Ergebnisse und in Übereinstimmung mit Rowlands (1958) wird angenommen, daß Chiasmainterferenz zwischen den Bivalenten kein Kontrollelement der Chiasmabildung bei *Vicia faba* darstellt, d.h., daß die einzelnen Bivalente hinsichtlich der Chiasmabildung ein autonomes Verhalten zeigen.

4. 3. Chiasmainterferenz innerhalb der Bivalente

Schon Muller (1916) beobachtete, daß das Vorhandensein eines crossing-overs in einem Chromosomensegment die Wahrscheinlichkeit der Ausbildung eines zweiten crossing-overs in dessen unmittelbarer Nachbarschaft zu reduzieren vermag. Diese Erscheinung wurde als positive genetische Interferenz bezeichnet. Die Stärke der Interferenz nimmt

dabei mit zunehmendem Abstand vom ersten crossing-over ab. Cytologisch wurden Interferenzerscheinungen erstmals von Haldane (1931) bei *Vicia faba* nachgewiesen, wo beobachtet wurde, daß die Verteilung der Chiasmen innerhalb der Bivalente nicht zufällig erfolgte.

Bei zahlreichen Organismen konnten sowohl positive als auch negative Interferenzerscheinungen beobachtet werden. Das Centromer wirkt dabei meist als Barriere, so daß nur in seltenen Fällen positive Chiasmainterferenz über das Centromer beobachtet werden konnte (Patau, 1941; Harte, 1956). Interferenzerscheinungen sind somit als universal wirkende Kontrollelemente der Chiasmabildung anzusehen. Als Ursachen dieser Interferenzen kommen sowohl physikalische als auch biochemische Wechselwirkungen in Frage. Die Beobachtungen von Jones (1967 und 1974) an abnormen Roggengenotypen, die eine zufällige Chiasmaverteilung aufwiesen, lassen auf eine polygene Determination dieser Faktoren schließen.

Auch in den von Rowlands (1958) untersuchten Pflanzen von *Vicia faba* konnte positive Chiasmainterferenz innerhalb der Bivalente beobachtet werden. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß dies auch für sämtliche Bivalente der einzelnen Linien zutrifft. Das Vorhandensein von positiver Chiasmainterferenz innerhalb der Bivalente führt auch dazu, daß die Verteilung der Chiasmen zwischen den PMC nicht zufällig erfolgt, was die beobachteten Abweichungen von einer Poisson-Verteilung zu erklären vermag.

Die Beobachtungen zeigen ferner, daß auch die sehr kleinen Chromosomen fast immer ein Chiasma ausbilden, womit eine geregelte Verteilung auch dieser Chromosomen gewährleistet wird. Es scheint somit ein Mechanismus zu existieren, der dafür sorgt, daß sämtliche Chromosomen eines Genoms, unabhängig von ihrer Länge, ein obligates Chiasma ausbilden. Darüber hinaus besteht eine lineare Abhängigkeit zwischen der Chiasmafrequenz pro Bivalent und der Chromosomenlänge. Entsprechende lineare Abhängigkeiten zwischen der Chiasmafrequenz und der Chromosomenlänge konnten bei zahlreichen, wenngleich nicht allen untersuchten Organismen, beobachtet werden (Mather, 1937;

Hearne und Huskins, 1935; Darlington, 1937; Harte, 1956; Elliott, 1958; Henderson, 1963; Southern, 1967; Hultén, 1974).

4. 4. Chiasmabildung und Verteilung

Die enge Paarung der Homologen im Pachytän ist eine wesentliche Voraussetzung für die Chiasmabildung, jedoch können auch bei vollständiger Paarung Störungen in der Chiasmabildung auftreten (Prakken, 1943; Sjödin, 1970; Jones, 1967 und 1974; Parker, 1975). Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, daß in der meiotischen Prophase zwischen den Homologen eine Paarungsstruktur ausgebildet wird, die als synaptonemaler Komplex bezeichnet wurde (Moses, 1956 und 1959). Die Arbeiten von Moens (1969) an *Locusta migratoria* zeigen, daß in den frühen meiotischen Stadien die noch ungepaarten telomerischen und centromerischen Chromosomenenden einen engen Kontakt zur Kernmembran aufweisen. Dabei liegen die Kontaktpunkte von homologen Chromosomen nah beieinander. In den späteren Stadien schreitet die Synapsis dann reißverschlußartig entlang der Chromosomenarme fort, so daß im Pachytän die gepaarten Homologen, ausgehend von der Kernmembran, schleifenartige Strukturen bilden, die sich auch lichtmikroskopisch als die seit langem bekannten Bouquet-Figuren nachweisen lassen.

Es wurden verschiedentlich Einwände dagegen erhoben, daß auf Grund von beobachteten Chiasmaverteilungen Aussagen über die Verteilung der ursprünglichen Austauschorte im Pachytän getroffen wurden. So könnten Terminalisationsvorgänge zu einer veränderten Verteilung in den späteren meiotischen Stadien führen. Dies scheint jedoch zumindest für einige Objekte nicht der Fall zu sein. So konnte Jones (1973) in Männchen von *Stethophyma grossum*, einem Objekt mit proximaler Chiasmalokalisation, auf Grund von Markierungsexperimenten nachweisen, daß die Verteilung der Austauschorte im Pachytän der der beobachteten Chiasmen entspricht. Ferner konnte von Jones (1973) bei dem oben genannten Objekt gezeigt werden, daß die proximale Chiasmalokalisation korreliert war mit einer strukturellen Änderung im Aufbau des synaptonemalen Komplex.

Mather (1937 und 1940) gelangte auf Grund seiner Beobachtungen zu der Auffassung, daß die Chiasmabildung in centromernahen Chromosomen-

bereichen beginnt und dann sequentiell entlang der Chromosomenarme zu interkalaren und distalen Segmenten fortschreitet. Der Abstand zwischen dem Centromer und dem ersten Chiasma wurde dabei als differentieller Abstand benannt, während die Bereiche zwischen aufeinanderfolgenden Chiasmen als interferentielle Abstände bezeichnet wurden.

Während bei einigen Objekten Anzeichen dafür vorhanden sind, daß die Chiasmabildung in centromernahen Segmenten beginnt, (Emsweller und Jones, 1945; Jones, 1973; Shaw und Knowles, 1976), sind jedoch auch zahlreiche Objekte bekannt, bei denen auf Grund der beobachteten Chiasmaverteilungen mit großer Wahrscheinlichkeit eine distal beginnende Chiasmabildung vorliegt (Henderson, 1963; Southern, 1965; Fox, 1973; Hultén, 1974; Burnham et al., 1972). Ferner wurden auch Objekte beschrieben, bei denen die Chiasmabildung in einigen Bivalenten proximal, in anderen dagegen distal zu beginnen scheint (Klásterská et al., 1974; Bantock, 1972). Auch simultane Chiasmabildung in centromerischen wie auch telomerischen Bereichen konnte für bestimmte Bivalente wahrscheinlich gemacht werden (Henderson, 1963).

Die vorliegenden Beobachtungen an *Vicia faba* zeigen, daß bei niedrigen Chiasmafrequenzen pro Bivalent vorwiegend distale und proximale Chiasmen gebildet werden. Erst mit zunehmender Chiasmafrequenz treten auch in Abhängigkeit von der Länge des interkalaren Segments interstitielle Chiasmen auf. Dies trifft sowohl für die verschiedenen akrocentrischen Chromosomenpaare, wie auch für die unterschiedlichen metacentrischen Chromosomenpaare zu. Ein entsprechendes Verteilungsmuster der Chiasmen konnte auch von Hutchinson (1973 und persönliche Mitteilung) an einer Standardlinie von *Vicia faba* beobachtet werden. Die in den einzelnen Linien induzierten Umlagerungen von eu- und heterochromatischen Bereichen scheinen auf die Bildungstendenz der Chiasmen nur wenig Einfluß auszuüben.

Erklärt werden könnten die beobachteten Chiasmaverteilungen mit der Annahme, daß die Chiasmabildung sowohl in centromerischen als auch in distalen Chromosomensegmenten beginnt und daß die Wahrscheinlichkeit der Ausbildung von Chiasmen in diesen Regionen auf Grund von fehlenden Interferenzen am größten ist. Entsprechend der Länge des interkalaren Segments und der Stärke der Interferenz würden anschließend

auch interstitielle Chiasmen ausgebildet werden. Auch unter der Annahme nur eines Initiationspunktes könnte man die beobachteten Chiasmaverteilungen erklären, wenn man davon ausgeht, daß die Chiasmabildung nicht sequentiell entlang der Chromosomenarme fortschreitet, sondern daß sie diskontinuierlich verläuft. Nach der Bildung eines distalen bzw. proximalen Chiasmas würde danach auf Grund der Interferenz ein proximales bzw. distales Chiasma gebildet, und anschließend könnten die interstitiellen Chiasmen ausgebildet werden.

Sjödín (1970) konnte bei einigen asynaptischen Mutanten von *Vicia faba*, die eine sehr niedrige Chiasmahäufigkeit aufwiesen, keine bevorzugte Lokalisation der Chiasmen beobachten. So wurden in 110 analysierten Bivalenten mit nur einem Chiasma 90 Chiasmen in distalen und 88 Chiasmen in interkalaren Segmenten beobachtet. Diese Abweichung von dem in der vorliegenden Arbeit beobachteten Verteilungsmuster könnte auf eine gestörte Chiasmalokalisation in den von Sjödín untersuchten Pflanzen zurückzuführen sein. Entsprechendes konnte von Jones (1967 und 1974) bei abnormen Roggengenotypen beobachtet werden, wo ebenfalls eine starke Reduktion der Chiasmahäufigkeiten eng mit einer vom Normaltyp abweichenden Chiasmaverteilung korreliert war.

4.5. Einfluß der Heterochromatinverteilung auf die Chiasmaverteilung

Eine charakteristische Eigenschaft heterochromatischer Chromosomen-segmente ist es, daß sie die Ausbildung von crossing-over drastisch zu reduzieren vermögen (Baker, 1958; John und Lewis, 1965). Dies konnte auch durch cytologische Beobachtungen bestätigt werden (White, 1954 und 1958; Linnert, 1958). So wurde beobachtet, daß innerhalb heterochromatischer Strukturen nur selten Chiasmen ausgebildet wurden, während sie dagegen an der Grenze zwischen Eu- und Heterochromatin gehäuft auftreten.

Mit Hilfe der Giemsa- und Fluoreszenz-Banden-Techniken wurde eine genauere Analyse dieses Phänomens möglich. So konnte von verschiedenen Autoren (Fox et al., 1973; Klášterská et al., 1974; Hultén, 1974; Miklos und Nankivell, 1976) an unterschiedlichen Objekten beobachtet

werden, daß innerhalb differentiell gefärbter Chromosomensegmente weniger Chiasmen ausgebildet wurden als in den eng benachbarten euchromatischen Chromosomenabschnitten. Auch die Arbeiten von Schlegel und Liebelt (1976) an Tetraroggen sowie die von Merker (1976) an isogenen Triticale-Linien zeigen, daß heterochromatische Segmente die Chiasmabildung in den sie tragenden Chromosomenarmen reduzieren können.

Die vorliegenden Ergebnisse an *Vicia faba* lassen vermuten, daß auch bei diesem Objekt die Chiasmen häufig an der Grenze zwischen eu- und heterochromatischen Strukturen und nur selten im Bereich des Heterochromatins ausgebildet werden. Die Heterochromatinverteilung übt somit einen Einfluß auf die Lage der Rekombinationsorte und damit auch auf die genetische Variabilität dieser Art aus. Diese Aussagen bedürfen jedoch auf Grund der relativ wenigen zur Verfügung stehenden Beobachtungen einer weiteren Prüfung.

5. Zusammenfassung

Es wurde die Chiasmabildung und die Verteilung der Chiasmen in Chromosomen unterschiedlicher Länge und in Abhängigkeit von der Verteilung von Eu- und Heterochromatin an einer Standard- sowie an vier Translokations- und einer Inversionslinie von *Vicia faba* untersucht. Die Bestimmung der Verteilung von Eu- und Heterochromatin erfolgte mit Hilfe der Giemsa-Banden-Technik, die eine Identifizierung einzelner Chromosomen ermöglicht. Die Beobachtungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Sowohl zwischen den einzelnen Linien, wie auch zwischen einzelnen Pflanzen innerhalb der Linien konnten signifikante Unterschiede in der mittleren Chiasmafrequenz pro PMC nachgewiesen werden.

2. Es besteht eine lineare Abhängigkeit zwischen der Chiasmafrequenz pro Bivalent und der relativen mitotischen Chromosomenlänge. Darüber hinaus sorgt ein Mechanismus dafür, daß sämtliche Bivalente, einschließlich der sehr kleinen, mindestens ein Chiasma ausbilden können und somit eine geregelte Verteilung in der Meiosis durchlaufen können.

3. Chiasmainterferenz zwischen Bivalenten konnte im vorliegenden Material nicht beobachtet werden, dagegen konnte in allen Fällen innerhalb der einzelnen Bivalente starke Chiasmainterferenz nachgewiesen werden.

4. Bei niedrigen Chiasmafrequenzen pro Bivalent werden vorwiegend distale und proximale Chiasmen ausgebildet, dagegen treten interstitielle Chiasmen in größerem Umfang erst bei höheren Chiasmafrequenzen pro Bivalent auf. Dies trifft für sämtliche Bivalente zu und somit scheinen die induzierten Umlagerungen von Eu- und Heterochromatin keinen Einfluß auf die Reihenfolge der Chiasmabildung auszuüben.

5. Die Verteilung von Eu- und Heterochromatin scheint einen Einfluß auf die Lage der gebildeten Chiasmen auszuüben. Häufig wurden die Chiasmen an der Grenze zwischen eu- und heterochromatischen Regionen lokalisiert, dagegen sehr selten innerhalb des Heterochromatins.

6. Literaturverzeichnis

- Baker, W. K.: Crossing over in heterochromatin. Am. Nat. XCII, 59 - 60 (1958)
- Bantock, C. R.: Localisation of chiasma in *Cepaea nemoralis* L. Heredity 29, 213 - 221 (1972)
- Basak, S. L.; Jain, H. K.: Autonomous and interrelated formation of chiasmata in *Delphinium* chromosomes. Chromosoma 13, 577 - 587 (1963)
- ; -: The interchromosome distribution of chiasmata in interchange heterozygotes of *Delphinium*. Heredity 19, 53 - 61 (1964)
- Bellini, G.; Bianchi, A.: Interchromosomal effects of inversions on cross-over rate in maize. Zeit. f. Vererbungs. 94, 126 - 132 (1963)
- Burnham, C. R.; Stout, J. T.; Weinheimer, W. H.; Knowles, R. V.; Phillips, R. L.: Chromosome pairing in maize. Genetics 71, 111 - 126 (1972)
- Cameron, F. M.; Rees, H.: The influence of B chromosomes on meiosis in *Lolium*. Heredity 22, 446 - 450 (1967)
- Darlington, C. D.: The origin and behaviour of chiasmata. VIII. *Secale cereale*. Cytologia 4, 444 - 452 (1933)
- : Recent advances in cytology. Part I. Churchill, London (1937)
- Davies, E. D. G.; Jones, G. H.: Chiasma variation and control in pollen mother cells and embryo-sac mother cells of rye. Genet. Res. Camb. 23, 185 - 190 (1974)
- Elliott, C. G.: Environmental effects on the distribution of chiasmata among nuclei and bivalents and correlation between bivalents. Heredity 12, 429 - 439 (1958)
- Emsweller, S. L.; Jones, H. A.: Further studies on the chiasmata of the *Allium cepa* x *A. fistulosum* hybrid and its derivatives. Am. J. Botan. 32, 370 - 379 (1945)
- Fogwill, M.: Differences in crossing over and chromosome size in the sex cells of *Lilium* and *Fritillaria*. Chromosoma 9, 493 - 504 (1958)
- Fox, D. P.: The control of chiasma distribution in the locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål). Chromosoma 43, 289 - 328 (1973)
- ; Carter, K. C.; Hewitt, G. M.: Giemsa banding and chiasma distribution in the desert locust. Heredity 31, 272 - 275 (1973)
- Friebe, B.: Spezifische Giemsa-Färbung von heterochromatischen Chromosomensegmenten bei *Vicia faba*, *Allium cepa* und *Paeonia tenuifolia*.

- T. A. G. 47, 275 - 283 (1976)
- Haldane, J. B. S.: The cytological basis of genetic interference. *Cytologia* 3, 54 - 65 (1931)
- Harte, C.: Die Variabilität der Chiasmabildung bei *Paeonia tenuifolia*. *Chromosoma* 8, 152 - 182 (1956)
- Hearne, E. M.; Huskins, C. L.: Chromosome pairing in *Melanoplus femur-rubrum*. *Cytologia* 6, 123 - 144 (1935)
- Henderson, S. A.: Temperature and Chiasma formation in *Schistocerca gregaria*. I. An analysis of the response at a constant 40°C. *Heredity* 18, 77 - 94 (1963a)
- ; II. Cytological effects at 40°C and the mechanism of heat induced univalents. *Chromosoma* 13, 437 - 463 (1962)
- ; Chiasma distribution at diplotene in a locust. *Heredity* 18, 173 - 190 (1963 b)
- Hewitt, G. M.; John, B.: The influence of numerical and structural chromosome mutations on chiasma conditions. *Heredity* 20, 123 - 135 (1965)
- Hultén, M.: Chiasma distribution at diakinesis in the normal human male. *Hereditas* 76, 55 - 78 (1974)
- Hutchinson, J.: Chromosome selection in *Secale*. Ph. D. Thesis, Univ. of Wales, Aberystwyth (1973)
- ; Mündliche Mitteilung (1975)
- Jones, G. H.: The control of chiasma distribution in rye. *Chromosoma* 69 - 90 (1967)
- ; The analysis of exchanges in tritium-labelled meiotic chromosomes. *Chromosoma* 34, 367 - 382 (1971)
- ; Light and electron microscope studies of chromosome pairing in relation to chiasma localisation in *Stethophyma grossum* (Orthoptera: Acrididae). *Chromosoma* 42, 145 - 162 (1973)
- ; Correlated components of chiasma variation and the control of chiasma distribution in rye. *Heredity* 32, 375 - 387 (1974)
- ; Rees, H.: Genotypic control of chromosome behavior in rye. VII. The distribution of chiasmata within pollen mother cells. *Heredity* 19, 719 - 730 (1964)

- John, B.; Lewis, K. R.: The meiotic system. Protoplasmatologia VIF1. Springer Verlag, Wien-New York (1965)
- Jones, R. N.; Rees, H.: Genotypic control of chromosome behavior in rye. XI. The influence of B chromosomes on meiosis. Heredity 22, 333 - 347 (1967)
- Klásterská, I.; Natarajan, A. T.; Ramel, C.: Heterochromatin distribution and chiasma localisation in the grasshopper *Bryodema tuberculata* (Fabr.) (Acrididae). Chromosoma 44, 393 - 404 (1974)
- Linnert, G.: Der Einfluß von Chemikalien auf Chiasmabildung und Mutationsauslösung bei *Oenothera*. Chromosoma 5, 428 - 453 (1953)
- : Die Struktur der Pachytänchromosomen in Euchromatin und Heterochromatin und ihre Auswirkung auf die Chiasmabildung bei *Salvia*-Arten. Chromosoma 7, 90 - 128 (1955)
- Maeda, T.: On the configurations of the gemini in the pollen mother cells of *Vicia faba*. L. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. 5, 125 - 137 (1930)
- Marquardt, H.: Die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Chiasmahäufigkeit in der Meiose von *Vicia faba*. Chromosoma 4, 232 - 238 (1951)
- Mather, K.: Competition between bivalents during chiasma formation. Proc. Royal Soc. B. 120, 208 - 227 (1936)
- : The determination of position in crossing-over. II. The chromosome length-chiasma frequency relation. Cytologia (Fujii jub. vol., 514 - 526 (1937)
- : The evidence of metaphase chiasmata. J. Genetics 39, 205 - 223 (1940)
- : Statistical analysis in biology. Methuen & Co, LTD London, University Paperbacks (1951)
- ; Lamm, R.: The negative correlation of chiasma frequencies. Hereditas 20, 65 - 70 (1935)
- Merker, A.: The cytogenetic effect of heterochromatin in hexaploid triticale. Hereditas 83, 215 - 222 (1976)
- Miklos, G. L. G.; Nankivell, R. N.: Telomeric satellite DNA functions in regulating recombination. Chromosoma 56, 143 - 167 (1976)

- Moens, P. B.: The fine structure of meiotic chromosome polarization and pairing in *Locusta migratoria* spermatocytes. *Chromosoma* 28, 1 - 25 (1969)
- Morgan, T. H.; Bridges, C. B.; Schultz, J.: Constitution of the germinal material in relation to heredity. *Carnegie Inst. Wash. Yearbook* 32, 298 - 302 (1933)
- Moses, M. J.: Chromosomal structure in crayfish spermatocytes. *J. biophys. biochem. Cytol.* 2, 215 - 218 (1956)
- : Structure and function of the synaptonemal complex. *Genetics Suppl.* 61, (2) 41 - 51 (1969)
- Muller, H. J.: The mechanism of crossing over. *Am. Nat.* 50, 421 - 434 (1916)
- Parker, J. S.: Chromosome-specific control of chiasma formation. *Chromosoma* 49, 391 - 406 (1975)
- Pastor, J. B.; Callan, H. G.: Chiasma formation in spermatocytes and oocytes of the turbellarian *Dendrocoelum lacteum*. *J. Genet.* 50, 449 - 454 (1952)
- Patau, K.: Cytologischer Nachweis einer positiven Interferenz über das Centromer. (Der Paarungskoeffizient I.). *Chromosoma* 2, 36 - 63 (1941)
- Prakken, R.: Studies of asynapsis in rye. *Hereditas* 29, 475 - 495 (1941)
- Ramel, P.: Interchromosomal effects of inversions in *Drosophila melanogaster*. I. Crossing-over. *Hereditas* 48, 1 - 58 (1962)
- Rees, H.: Genotypic control of chromosome behavior in rye. I. Inbred lines. *Heredity* 9, 93 - 116 (1955)
- : IV. The origin of new variation. *Heredity* 11, 185 - 193 (1957)
- ; Thompson, J. B.: III. Chiasma frequency in homozygotes and heterozygotes. *Heredity* 10, 409 - 424 (1956)
- ; -: V. The distribution pattern of chiasmata between pollen mother cells. *Heredity* 12, 101 - 111 (1958)
- ; Dale, P. J.: Chiasmata and variability in *Lolium* and *Festuca* populations. *Chromosoma* 47, 335 - 351 (1974)
- Rhoades, M. M.: The cytogenetics of maize. *Corn and Corn Improvement* New York, Academic Press (1955)

- Rowlands, D. G.: The control of chiasma frequency in *Vicia faba* L. *Chromosoma* 9, 176 - 184 (1958)
- Sax, K.: Variation in chiasma frequencies in *Secale*, *Vicia faba* and *Tradescantia*. *Cytologia* 6, 289 - 293 (1935)
- Schlegel, R.; Liebelt, H.: Untersuchungen zum meiotischen Paarungsverhalten Giemsa-gefärbter Chromosomen des autotetraploiden Roggens (*Secale cereale* L.). *Biol. Zbl.* 95, 725 - 734 (1976)
- Sharma, R. P.; Singh, D.: The effect of actinomycin-D on chiasma frequency in *Vicia faba*. *Chromosoma* 24, 309 - 313 (1968)
- Shaw, D. D.; Knowles, G. R.: Comparative chiasma analysis using computerised optical digitiser. *Chromosoma* 59, 103 - 127 (1976)
- Shaw, S. S.: Inter-relationships of chiasma frequencies in normal set bivalents in presence of extra heterochromatin and euchromatin in *Dactylis glomerata* subs. *lusitanica*. *Heredity* 20, 470 - 474 (1965)
- : Chiasma frequencies in euchromatic and heterochromatic chromosomes *Heredity* 22, 443 - 446 (1967)
- Sjödén, J.: Induced asynaptic mutants in *Vicia faba* L. *Hereditas* 66, 215 - 232 (1970)
- : Induced paracentric and pericentric inversions in *Vicia faba* L. *Hereditas* 67, 39 - 54 (1971a)
- : Induced translocations in *Vicia faba* L. *Hereditas* 68, 1 - 34 (1971b)
- Southern, D. I.: Chiasma distribution in truxaline grasshoppers. *Chromosoma* 22, 164 - 191 (1967)
- Straub, J.: Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis VII. Die Abhängigkeit der Chiasmabildung bei *Vicia faba* und *Campanula persicifolia* von äußeren Bedingungen. *Z. Botan.* 32, 225 - 268 (1937)
- Sybenga, J.: Monographs on theoretical and applied genetics 1. Meiotic configurations. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1975)
- White, M. J. D.: The influence of temperature on chiasma frequency. *J. Genet.* 29, 203 - 215 (1934)

- : Animal cytology and evolution. University Press Cambridge, 2nd ed. (1954)
 - : Restrictions on recombination in grasshopper populations and species. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. 23, 307 - 317 (1950)
- Zarchi, Y.; Simchen, G.; Hillel, J; Schaap, T.: Chiasmata and the breeding system in wild populations of diploid wheats. Chromosoma 38, 77 - 94 (1972)

Frau Prof. Dr. G. Linnert danke ich für die freundliche Überlassung des Themas sowie für die ständig gewährte Förderung.

Die Arbeit wurde mit finanzieller Unterstützung der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT durchgeführt; ihr bin ich ebenfalls zu Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 25. 8. 1951 wurde ich, Bernd Friebe, als Sohn des Arbeiters Erich Friebe und seiner Ehefrau Margarete in Berlin geboren.

Von 1958 bis 1964 besuchte ich die Paula Dehmel Grundschule und von 1964 bis 1971 das Ranke Gymnasium in Berlin.

1971 erwarb ich die allgemeine Hochschulreife und begann das Studium der Biologie an der Freien Universität Berlin, wo ich 1975 die Diplomprüfung erfolgreich ablegte.

Seit November 1975 arbeite ich am Institut für Angewandte Genetik der Freien Universität Berlin im Rahmen eines Forschungsauftrages an der vorliegenden Dissertation.

